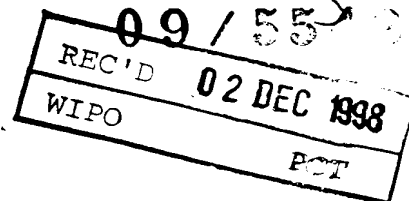


GP 98/06868

09/55 067



**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



## Bescheinigung

Die Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH in Frankfurt am Main/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Antisense Oligonucleotide gegen Tenascin  
zur Behandlung von Vitiligo"

am 15. November 1997 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Das angeheftete Stück ist eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlage dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig die Symbole C 07 H, A 61 K und C 12 N der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 18. September 1998

Der Präsident des Deutschen Patentamts  
Im Auftrag

Patenzzeichen: 197 50 702.6

Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin zur Behandlung von Vitiligo

Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechenden bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

Unter Vitiligo wird ein erworbenes Fehlen von Melanozyten verstanden, wodurch hypigmentierte Hautbereiche entstehen, die in der Regel scharf begrenzt und häufig symmetrisch angeordnet sind, einen oder zwei Flecke bilden oder fast die ganze Haut erfassen. Das Haar in hypigmentierten Bezirken ist normalerweise weiß und erscheint auch im Wood-Licht weiß. Die betroffenen Hautstellen sind anfällig gegen Sonnenbrand. Die Ursache der Erkrankung ist unbekannt. Obwohl die Vitiligo als eine im Laufe des Lebens erworbene Krankheit gilt, findet sich gelegentlich eine familiäre Häufung (autosomal-dominant, mit incomplett Penetranz und variabler Ausprägung). Sie kann auch einem ungewöhnlichen physischen Trauma, insbesondere einer Schädelverletzung, folgen. Die Assoziation von Vitiligo mit einem Morbus Addison, Diabetes mellitus, perniziöser Anämie oder Schilddrüsendysfunktion wie auch das gehäufte Vorkommen von Antikörpern gegen Thyreoglobulin, Zellen der Nebenniere und Belegzellen des Magens im Serum haben dazu geführt, eine immunologische oder neurochemische Ursache zu vermuten. Antikörper gegen Melanin wurden bei einigen Patienten gefunden.

Alle verfügbaren Therapiemethoden führen nur bei einem Teil der Patienten zu befriedigenden Therapieerfolgen (F. Wach et al., H+G 71 (1996) 206). Zu den vorhandenen Therapien (S. P. W. Kumarasinghe, Ceylon Medical Journal 40 (1995) 94) gehören Photochemotherapien (PUVA), beispielsweise mit Methoxypsoralen,

Phenylalanin, oder Khellin, die Transplantation von kultivierten Melanozyten,

"epidermal grafting", und die Behandlung mit Steroiden oder Plazenta-Extrakten.

Kürzlich wurde über die Behandlung mit Pseudocatalase berichtet (Schallreuter et al., Dermatology 190 (1995) 223). Kleine Herde können auch mit kosmetischer

Schminke oder Gerblösungen abgedeckt werden.

Poole et al. (British Journal of Dermatology 137 (1997) 171) konnten zeigen, daß die Vitiligo befallene Haut im Vergleich zu normaler Haut einen hohen Gehalt an Tenascin aufweist. Der hohe Tenascin-Gehalt kann zum Verlust der Pigmentierung beitragen und die Repigmentierung verhindern. Tenascin (Crossin, J. Cell. Biol. 61 (1996) 592) ist ein extracelluläres Matrix Glykoprotein, das aus sechs identischen Untereinheiten besteht, welche am Amino-Terminus über Disulfid-Brücken verknüpft sind. Die Tenascin Untereinheiten weisen eine charakteristische Domänenstruktur auf. Auf eine Cystein-reiche Sequenz am aminoterminalen Ende folgen drei, jeweils aus sich wiederholenden Einheiten aufgebaute Sequenzabschnitte aus zum EGF homologen Einheiten, aus zum Fibronektin (Typ III) homologen Einheiten und aus zum Fibrinogen homologen Einheiten.

Es existieren mehrere Isoformen der Tenascin Untereinheiten (im folgenden als Tenascin Isoformen bezeichnet), die sich in der Anzahl der sich wiederholenden Einheiten, die zum Fibronektin Typ III homolog sind, unterscheiden. Diese Isoformen werden durch alternatives splicing der Tenascin pre-mRNA und anschließende Translation der verschiedenen Splicevarianten gebildet (A. Leprini et al.,

Perspectives on Developmental Neurobiology 2 (1994) 117-123). Eine cDNA von humanem Tenascin wurde von A. Siri et al. (Nucleic Acids Res. 19 (1991) 525-531) beschrieben (Sequenz in Tabelle 1). Diese cDNA ist unter der Zugangsnummer X56160 in Gen-Datenbanken gespeichert und kann unter dieser Nummer

beispielsweise unter EMBL/Genbank/DBJ/NBRF-PIR erhalten werden. Diese cDNA enthält einen Sequenzabschnitt, der für 12 sich wiederholende Einheiten, die zum Fibrinogen Typ III homolog sind, kodiert. Die cDNAs der anderen Isoformen

humanen Tenascins sind in diesem Sequenzabschnitt verkürzt und kodieren für weniger als 12 dieser sich wiederholenden Einheiten.

Die Expression von Tenascin ist räumlich und zeitlich begrenzt und ihm wird eine Bedeutung während der Entwicklung eines Organismus sowie bei pathologischen Veränderungen zugeschrieben (Crossin, vide supra). Solche pathologischen Veränderungen sind beispielsweise Vitiligo, Tumore und Entzündungen.

Eine Möglichkeit zur Regulation der Genexpression bieten Antisense-

Oligonukleotide (E. Uhlmann and A. Peyman, Chemical Reviews 90, 543 (1990); S. Agrawal, TIBTECH 1996, 376). In WO 94/21664 (L. Denner et al.) werden Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin, die zur Inhibition der Proliferation der glatten Zellmuskulatur eingesetzt werden, beschrieben. Die dort beschriebenen Oligonukleotide haben eine Länge von mindestens 18 Nucleotiden.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, neue Oligonukleotide, die vorteilhafte Eigenschaften aufweisen und die zur vollständigen und/oder teilweisen Inhibition der Genexpression von Tenascin verwendet werden können, bereitzustellen.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Oligonukleotide, die eine Länge von bis zu 18 Nucleotiden aufweisen, die Expression von Tenascin effektiv beeinflussen können. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Oligonukleotide mit 7 - 17 Nucleotideinheiten. In besonderen Ausführungsformen der Erfindung weisen die Oligonukleotide eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nucleotiden auf. Die Oligonukleotide entsprechen Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen und die Oligonukleotide binden spezifisch an diese Tenascin-kodierenden Sequenzen (Nukleinsäuren), beispielsweise an das humane Tenascin-Gen und/oder humane Tenascin mRNA und/oder humane Tenascin cDNA. Die Abschnitte Tenascin-kodierender Sequenzen, denen die Oligonukleotide

entsprechen, haben vorzugsweise eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nucleotideinheiten (gilt insbesondere für die Bestimmung der Länge modifizierter und/oder chimärer Oligonukleotide bzw. von Oligonukleotid-Analoga).

In besonderen Ausführungsformen der Erfindung sind die Oligonukleotide gegen bestimmte Bereiche der Tenascin-kodierenden Sequenzen gerichtet, beispielsweise den Translationsstart, den 5'- nicht translatierten Bereich, den kodierenden Bereich und/oder den 3' nicht kodierenden Bereich. In besonderen Ausführungsformen der Erfindung können die Oligonukleotide auch gegen Bereiche Tenascin-kodierender Sequenzen gerichtet sein, die für bestimmte Domänen des Tenascins kodieren, beispielsweise gegen die Cystein-reiche Domäne, gegen die zum EGF homologe Domäne, gegen die zum Fibronectin Typ III homologe Domäne und/oder die zum Fibrinogen homologe Domäne.

Gegenstand der Erfindung sind insbesondere Oligonukleotide, die

Sequenzabschnitten der humanen cDNA gemäß SEQ ID NO. 1 (Tabelle 1) entsprechen. Gegenstand der Erfindung sind weiterhin Oligonukleotide, die Sequenzabschnitten der cDNA mit der Genbank Zugangsnummer X56160 entsprechen.

In speziellen Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid beispielsweise eine der folgenden Sequenzen haben:

SEQ ID NO. 2: 3'-GGTTTGGGTGGAGGTGG-5'  
 SEQ ID NO. 3: 3'-GGAGGTGGTACCCCCCGG-5'  
 SEQ ID NO. 4: 3'-GGTGGTACCCCCCGG-5'  
 SEQ ID NO. 5: 3'-GGAGGTGGTACCCC-5'  
 SEQ ID NO. 6: 3'-AGAAAGAACGAAAGGAA-5'  
 SEQ ID NO. 7: 3'-GGAGGTGGTACC-5'  
 SEQ ID NO. 8: 3'-GGAGCGATGGCTTCCA-5'

Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid gegebenenfalls ein oder mehrere Modifikationen, beispielsweise chemische Modifikationen, enthalten. Ein Oligonukleotid kann mehrere gleiche und/oder verschiedene Modifikationen aufweisen.

5

Beispiele für chemische Modifikationen sind dem Fachmann bekannt und beispielsweise in E. Uhlmann and A. Peyman, Chemical Reviews 90 (1990) 543 und "Protocols for Oligonucleotides and Analogs" Synthesis and Properties & Synthesis and Analytical Techniques, S. Agrawal, Ed. Humana Press, Totowa, USA 1993 und S. T. Crooke, F. Bennet, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36 (1996) 107-129 beschrieben.

10

Die chemische Modifikation eines Oligonukleotids kann beispielsweise

a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken durch modifizierte Phosphorbrücken, beispielsweise durch Phosphorothioat-,

15

Phosphorodithioat-, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>-Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-(C<sub>1</sub>-C<sub>21</sub>)-O-Alkylester, Phosphat-[(C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>)Aryl-(C<sub>1</sub>-C<sub>21</sub>)-O-Alkyl]ester, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)Alkylphosphonate und/oder (C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>)-Arylphosphonat-Brücken, wobei

R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> unabhängig voneinander für Wasserstoff, (C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl, (C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>)-Aryl, (C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>)-Aryl-(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-alkyl, bevorzugt für Wasserstoff, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)-Alkyl und/oder Methoxyethyl, besonders bevorzugt für Wasserstoff, (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-Alkyl und/oder Methoxyethyl stehen

20

oder

R<sup>1</sup> und R<sup>2</sup> zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe

25 O, S, N enthalten kann, bedeuten und/oder

5

SEQ ID NO. 9: 3'-AAAGGAACGGGAGCG-5'  
 SEQ ID NO. 10: 3'-GGTCGGTTGGGTGG-5'  
 SEQ ID NO. 11: 3'-CTTACAGGTCGGTTGA-5'  
 SEQ ID NO. 12: 3'-GGCCGTGTTGCGTGT-5'  
 SEQ ID NO. 13: 3'-TCACCCCTCTTTCTGG-5'  
 SEQ ID NO. 14: 3'-GGACACCGACACGG-5'  
 SEQ ID NO. 15: 3'-AACGGGAGCGATGG-5'  
 SEQ ID NO. 16: 3'-ATCTCGGGTCTGTC-5'  
 SEQ ID NO. 17: 3'-AAAGAACGAAAGGAA-5'  
 SEQ ID NO. 18: 3'-GGTGGTACCCC-5'  
 SEQ ID NO. 19: 3'-CCCGGTACTGA-5'  
 SEQ ID NO. 20: 3'-CCACAGAAAGAAC-5'

10

Die Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entsprechen Abschnitten der

15 Tenascin-kodierenden cDNA, wie sie in Tabelle 1 dargestellt ist. Ein Oligonukleotid, das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 hat, ist komplementär zu einem entsprechenden Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Nukleinsäure, z.B. einer humanen Tenascin cDNA und kann an diese Nukleinsäure binden.

20 Gegenstand der Erfindung sind auch Derivate des Oligonukleotids, beispielsweise dessen Salze, insbesondere dessen physiologisch verträglichen Salze. Unter physiologisch verträglichen Salzen werden in Wasser leicht lösliche, lösliche und wenig lösliche Verbindungen, beispielsweise gemäß der Definition im "Deutschen Arzneibuch" (9. Ausgabe 1986, Amtliche Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart), Seite 19, verstanden. Eine spezielle Ausführungsform der Erfindung betrifft das Natriumsalze des erfindungsgemäßen Oligonukleotids.

25

Ein Oligonukleotid kann beispielsweise vollständig aus den Nukleotiden Adenosinphosphat, Guanosinphosphat, Inosinphosphat, Cytidinphosphat, Uridinphosphat und Thymidinphosphat aufgebaut sein. In anderen

30

- b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der 3'- und/oder 5'-Phosphorsäurediesterbrücken durch "Dephospho"-Brücken (beschrieben beispielsweise in Uhlmann, E. und Peyman, A. in "Methods in Molecular Biology", Vol. 20, "Protocols for Oligonukleotides and Analogs", S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa 1993, Chapter 16, 355ff), beispielsweise durch Formacetal, 3'-Thioformacetal, Methylhydroxylamin, Oxim, Methylendimethylhydrazo, Dimethylensulfon und/oder Silylgruppen bedeuten und/oder
- c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats, beispielsweise durch "Morpholinonucleosid"-Oligomere (beispielsweise in E. P. Strick et al., Nucleic Acids Res. 17 (1989) 6129 beschrieben) und/oder durch Polyamid Nucleinsäuren ("PNAs") (beispielsweise beschrieben in P. E. Nielsen et al., Bioconj. Chem. 5 (1994) 3) und/oder Phosphomonosäureester Nukleinsäuren ("PHONAS") (beschrieben beispielsweise in Peyman et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 35 (1996) 2632-2638) bedeuten und/oder
- d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der  $\beta$ -D-2'-Desoxyriboseeinheiten, beispielsweise durch  $\alpha$ -D-2'-Desoxyribose, L-2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl-Ribose, 2'-O-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl-Ribose, 2'-[O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl]-Ribose, 2'-NH<sub>2</sub>-2'-desoxyribose,  $\beta$ -D-Xylofuranose,  $\alpha$ -Arabinofuranose, 2,4-Dideoxy- $\beta$ -D-erythro-hexo-pyranose, und carbocyclische (beschrieben beispielsweise in Froehler, J Am Chem Soc. 114 (1992) 8320) und/oder offenkettige Zuckeranaloga (beschrieben beispielsweise in Vandendriessche et al., Tetrahedron 49 (1993) 7223) und/oder Bicyclo-Zuckeranaloga (beschrieben beispielsweise in M. Tarkov et al., Helv. Chim. Acta 76 (1993) 481) bedeuten und/oder
- e) die Modifikation beziehungsweise den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen, beispielsweise durch 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-

- Aminouracil, Pseudouracil, Dihydrouracil, 5-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl-uracil, 5-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)Alkenyl-uracil, 5-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl-uracil, 5-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl-cytosin, 5-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)Alkenyl-cytosin, 5-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)Alkyl-cytosin, 5-Fluoruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Chlorcytosin, 5-Bromuracil, 5-Bromcytosin und/oder 7-Deaza-7-substituierte Purine bedeuten und/oder
- f) die Konjugation mit einem oder mehreren Molekülen, die die Eigenschaften der Oligonukleotids an spezielle Anforderungen anpassen können, beispielsweise die Konjugation eines Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, welche die Eigenschaften (beispielsweise Zellpenetration, Nucleasestabilität, Affinität zur Tenascin-kodierenden Target-Sequenz, Pharmakokinetik) des Oligonukleotids, z.B. die eines Antisense-Oligonukleotids und/oder eines Tripelhelix-bildenden Oligonukleotids günstig beeinflussen und/oder bei der Hybridisierung des modifizierten Oligonukleotids an die Target-Sequenz diese unter Bindung und/oder Quervernetzung angreifen kann (Oligonukleotid-Konjugate), bedeuten. Beispiele dafür sind Konjugate mit Poly-Lysin, mit Interkalatoren wie Pyren, Acridin, Phenazin, Phenanthridin, mit fluoreszierenden Verbindungen wie Fluorescein, mit Cross-Linkern wie Psoralen, Azidoproflavin, mit lipophilen Molekülen wie (C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>)-Alkyl, mit Lipiden wie 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, mit Steroiden wie Cholesterin und/oder Testosteron, mit Vitaminen wie Vitamin E, mit Poly- bzw. Oligo-ethylenglycol, mit (C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit -O-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-O-(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl. Solche Moleküle können am 5'- und/oder am 3'-Ende und/oder innerhalb der Sequenz, z.B. über eine Nucleobase an das Oligonukleotid konjugiert sein.
- Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotid-Konjugats sind dem Fachmann bekannt und z.B. in Uhlmann, E. & Peyman, A., Chem. Rev. 90 (1990) 543 und/oder M. Manoharan in "Antisense Research and Applications", Crooke and Lebleu, Eds., CRC Press, Boca Raton, 1993, Chapter 17, S.303ff. und/oder EP-A 0 552 766 beschrieben.

- g) Weiterhin kann in speziellen Ausführungsformen der Erfindung das Oligonukleotid am 3' und/oder am 5'-Ende 3'-3'- und/oder 5'-5'-Inversionen aufweisen. Diese Art der chemischen Modifikation ist dem Fachmann bekannt und beispielsweise in M. Koga et al., J. Org. Chem. 56 (1991) 3757 beschrieben.
- h) In bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend
- den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken durch Phosphorothioat- und/oder (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)/Alkylphosphonat-Brücken,
  - den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats durch "PNAs" und/oder PHONAs,
  - den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β-D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)/Alkyl-Ribose und/oder 2'-[O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)/Alkyl]-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)/Alkyl]-Ribose,
  - den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen durch 5-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)-Alkynyl-uracil und/oder 5-(C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)-Alkynyl-cytosin,
  - die 3'-3'- Inversionen am 3'-Ende des Oligonukleotids,
  - die Konjugation des Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können, aus der Reihe enthaltend lipophile Moleküle, z.B. (C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>)-Alkyl, Lipide, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Steroide, z.B. Cholesterin und/oder Testosteron, Vitamine, z.B. Vitamin E, Poly- bzw. Oligo-ethylenglycol, (C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl-Phosphatdiestern und -O-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-O-(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl.

In anderen bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend

- den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken durch Phosphorothioat-Brücken,
- den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β-D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)/Alkyl-Ribose und/oder 2'-[O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)/Alkyl]-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)/Alkyl]-Ribose,

- die Konjugation mit lipophilen Molekülen, z.B. (C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>)-Alkyl, mit Lipiden, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, mit (C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit CH<sub>2</sub>-CH(OH)-O-(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, das eine oder mehrere Modifikationen aufweisen kann und das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 aufweist bzw. das einer der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entspricht bzw. das den entsprechenden Sequenz-Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Sequenz entspricht und an diesen Abschnitt der Tenascin-kodierenden Sequenz binden kann.

- In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung werden Oligonukleotide bereitgestellt, in deren Sequenz jedes Nukleotid modifiziert ist. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung ist beispielsweise das Oligonukleotid vollständig aus Phosphorothioaten aufgebaut (durchgängig modifiziertes Phosphothioat). In einer weiteren speziellen Ausführungsform der Erfindung werden Oligonukleotide bereitgestellt, die den Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 entsprechen, wobei aber die Phosphodiester Brücken zwischen den einzelnen Nukleosiden (d.h. die Phosphatgruppen zwischen den einzelnen Nukleosiden) vollständig durch Phosphothioat Brücken (d.h. Phosphothioatgruppen zwischen den Nukleosiden) ersetzt sind.

In einer weiteren besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, indem nur ein Teil der Phosphodiester Brücken durch Phosphothioat

Brücken ersetzt ist. Insbesondere beinhaltet die Erfindung Oligonukleotide die nur minimal modifiziert sind. Das Prinzip der minimal modifizierten Oligonukleotide ist beschrieben in A. Peyman, E. Uhlmann, Biol. Chem. Hoppe-Seyler, **377** (1996) 67-70. Dabei werden 1-3 endständige Nucleotid-Einheiten am 5'- und am 3'-Ende und zusätzlich ausgewählte interne Pyrimidin-Positionen durch Phosphorothioate geschützt. Minimal modifizierte Oligonukleotide weisen besonders vorteilhafte Eigenschaften auf, beispielsweise zeigen sie besondere Nukleasesestabilität bei minimaler Modifikation.

10 Spezielle Ausführungsformen der Erfindung beinhalten ein minimal modifiziertes Oligonukleotid, das ist eine der Sequenzen, ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39, aufweist.

SEQ ID NO. 21: 3'-GsGsTsTGGGTsGGAGGsTsGsG-5'  
 SEQ ID NO. 22: 3'-GsGsAsGGTsGGTs**ACs**CCsCCsGsG-5'  
 SEQ ID NO. 23: 3'-GsGsTGGTs**ACs**CsCCsCsGsG-5'  
 SEQ ID NO. 24: 3'-GsGsAGGTsGGTs**ACs**CsCsC-5'  
 SEQ ID NO. 25: 3'-AsGsAAAGAAAsCsGAAAGGsAsA-5'  
 SEQ ID NO. 26: 3'-GsGsAGGTsGGTs**AsCsC**-5'  
 SEQ ID NO. 27: 3'-GsGsAGCsGATsGGCsTsTsCsCsA-5'  
 SEQ ID NO. 28: 3'-AsAsAGGAACsGGGAGsCsG-5'  
 SEQ ID NO. 29: 3'-GsGsTCGGTsTsTGGGTsGsG-5'  
 SEQ ID NO. 30: 3'-CsTsTACAGGTsCsCGTsTsGsA-5'  
 SEQ ID NO. 31: 3'-GsGsCsCGsTGTsTCGCGsTsGsT-5'  
 SEQ ID NO. 32: 3'-TsCsACsCCsCTsTsTTsTsCsTsGsG-5'  
 SEQ ID NO. 33: 3'-GsGsAsCACsCGACsACsGsG-5'  
 SEQ ID NO. 34: 3'-AsAsCsGGGAGCGATsGsG-5'  
 SEQ ID NO. 35: 3'-AsTsTsTCGGGGTsCsGsTsC-5'  
 SEQ ID NO. 36: 3'-AsAsAGAAACsGAAAGGsAsA-5'  
 SEQ ID NO. 37: 3'-GsGsTGGTs**ACs**CsCsC-5'

SEQ ID NO. 38: 3'-CsCsCsGGTsACsTsGsA-5'  
 SEQ ID NO. 39: 3'-CsCsAsCAGAAAGsAsA-5'

Die Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 entsprechen den Sequenzen  
 5 SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20, d.h. sie können an die gleichen Bereiche einer Tenascin-kodierenden Sequenz binden, wobei allerdings im Gegensatz den SEQ ID NO. 2-20 ein Teil der Phosphodiester Brücken durch Phosphothioat-Brücken (in der Sequenz durch ein "s" gekennzeichnet) ersetzt ist.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung betrifft chimäre Oligonukleotide. Ein  
 10 chimäres Oligonukleotid ist aus mindestens zwei verschiedenen Sequenzabschnitten aufgebaut, beispielsweise aus einem DNA-Abschnitt und einem modifizierten Abschnitt, z.B. einem PNA-Abschnitt. Diese unterschiedlichen Abschnitte verleihen dem gesamten Oligonukleotid besondere Eigenschaften.

Eine besondere Form chimärer Oligonukleotide ist beispielsweise in Matteucci und  
 15 Wagner, Nature 384 SUPP (1996) 20-22 beschrieben. Ein chimäres Oligonukleotid kann z.B. 1. eine sogenannte "Core Sequenz", die aus etwa sieben Nukleotiden besteht und die die RNase H aktivieren kann sowie 2. eine oder mehrere flankierende Sequenzen, welche die Affinität, Spezifität und/oder Nuklease-Stabilität des Oligonukleotids erhöhen, enthalten. Beispielsweise kann die "Core Sequenz" Phosphorothioat und/oder Phosphodiester Brücken enthalten. Als flankierende  
 20 Sequenzen eignen sich beispielsweise PNAs und/oder 2'-O-Alkyl-Derivate wie ethyl-2'-OMethyl und/oder 2'-O-Propyl und/oder 2'-Methoxyethoxy-Derivate.

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein chimäres Oligonukleotid,  
 das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 40 - SEQ ID NO. 58 aufweist, wobei  
 25 x unabhängig voneinander für Phosphorothioat und/oder Phosphodiester steht,  
 und





Menschen räumlich und zeitlich begrenzt ist, kann ein Abweichen von dieser normalen räumlichen und zeitlichen Expression, als Überexpression angesehen werden. Weiterhin können die Oligonukleotide für die Diagnose bzw. Früherkennung solcher Krankheiten eingesetzt werden.

5 Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten, zur Behandlung von Krankheiten, bei denen Tenascin bzw. eine Überexpression von Tenascin ursächlich bzw. beteiligt ist.

10 Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten, bei denen eine Fehlsteuerung bzw. Störung der Einwanderung bzw. des Vorhandenseins bzw. der Einlagerung von Melanocyten in Epithelzellschichten, beispielsweise in Epithelzellschicht der Epidermis, der Aderhaut des Auges oder der Substantia nigra, zugrunde liegt bzw. beteiligt ist.

15 Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Vitiligo und anderen Depigmentierungskrankheiten bzw. Depigmentierungsstörungen (z.B. der Haut, Haare, Augen) beispielsweise Albinismus und/oder die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Psoriasis und/oder zur Behandlung von Krebs, z.B. zur Inhibitoren von Tumorstadium und Tumormetastasierung, beispielsweise bei Melanomen und/oder zur Behandlung von Entzündungen, insbesondere als Entzündungshemmer und/oder zur Behandlung und/oder Prophylaxe cardiovascularer Erkrankungen, beispielsweise der Restenose.

25 Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Vitiligo bzw. zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können. Die Erfindung betrifft darüber hinaus ganz allgemein (d.h. auch Oligonukleotide mit einer Länge von größer oder gleich 18

Nukleotiden) die Verwendung von Oligonukleotiden zur Behandlung von Vitiligo bzw. die Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

5 Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung zur Behandlung von Vitiligo in Kombination mit bekannten therapeutischen Verfahren, beispielsweise in Kombination a) mit Photochemotherapie (PUVA), z.B. unter Verwendung von Methoxypsoralen, Phenylalanin und/oder Khellin und/oder b) mit der Transplantation von kultivierten Melanocyten ("epidermal grafting") und/oder c) mit einer Steroid-Behandlung und/oder d) mit einer Behandlung mit Plazenta-Extrakten und/oder e) mit einer Behandlung mit Pseudocatalase.

10 Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln (pharmazeutischen Zubereitungen). Zur Herstellung von Arzneimitteln werden ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide bzw. deren physiologisch verträgliche Salze vermischt, wobei gegebenenfalls weitere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe zugegeben werden können.

20 Die Erfindung betrifft weiterhin pharmazeutische Zubereitungen, die ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze sowie gegebenenfalls pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten.

25 Das bzw. die Oligonukleotid(e) und/oder deren physiologisch verträgliche Salze können am Tier, bevorzugt am Säugetier, insbesondere am Menschen als Arzneimittel für sich allein, in Mischungen untereinander oder in Form von pharmazeutischen Zubereitungen verabreicht werden. Die Arzneimittel können eine topische, perkutane, parenterale und/oder enterale Anwendung gestatten. Die jeweils bevorzugte Anwendungsform hängt von den jeweils speziellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vitiligo beispielsweise wird eine topische Anwendung, z.B. in Form von Salben, Lotionen oder Tinkturen, Emulsionen,

Suspensionen bevorzugt. Ebenso hängt die Häufigkeit der Applikation von den individuellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vitiligo kann beispielsweise eine topische Komposition ein bis zweimal am Tag auf die depigmentierte Hautstelle aufgetragen werden.

5 Arzneimittel bzw. pharmazeutische Zubereitungen können als aktiven Bestandteil eine wirksame Dosis mindestens eines Oligonukleotids und/oder eine Mischung mehrerer Oligonukleotide und gegebenenfalls zusätzliche, pharmazeutisch einwandfreie Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten. Eine pharmazeutische Zubereitung kann etwa 0,1 % (Gewichtsprozent) oder weniger bis etwa 90 % pharmazeutisch wirksamen Oligonukleotids bzw. der Zubereitung kann etwa 0,1 % (Gewichtsprozent) oder mehr des therapeutisch wirksamen Oligonukleotids enthalten.

10 pharmazeutisch wirksamen Oligonukleotide enthalten.

Die pharmazeutisch wirksame Dosis des jeweiligen Oligonukleotids bzw. eines Oligonukleotids, welches Bestandteil einer Mischung verschiedener Oligonukleotide ist, kann innerhalb weiter Grenzen variieren und ist in jedem einzelnen Fall den individuellen Gegebenheiten anzupassen.

15 Die Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen kann in an sich bekannter Weise, z. B. beschrieben in Remingtons Pharmaceutical Sciences, Mack Publ. Co., Easton, PA. durchgeführt werden, wobei gegebenenfalls pharmazeutisch inerte anorganische und/oder organische Trägerstoffe verwendet werden können.

20 Herstellung von Pillen, Tabletten, Dragees und/oder Hartgelatinekapseln können z. B. Lactose, Maisstärke und/oder Derivate derselben, Talk, Stearinsäure und/oder deren Salze verwendet werden. Als Trägerstoffe für Weichgelatinekapseln und/oder Suppositorien können z. B. Fette, Wachse, halbfeste und/oder flüssige Polyole, natürliche und/oder gehärtete Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Lösungen und/oder Sirupen können z. B. Wasser, Saccharose, Invertzucker, Glukose und/oder Polyole verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Injektionslösungen können z. B. Wasser, Alkohole, Glycerin, Polyole und/oder pflanzliche Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für Mikrokapseln,

25

Implantate und/oder Rots können beispielsweise Mischpolymerisate, z. B. aus Glykolsäure und Milchsäure verwendet werden. Darüber hinaus sind Liposomenformulierungen, die dem Fachmann bekannt sind (N. Weiner, Drug Develop Ind Pharm 15 (1989) 1523; "Liposome Dermatics, Springer Verlag 1992), beispielsweise HVJ-Liposomen (Hayashi, Gene Therapy 3 (1996) 878) geeignet. Die dermale Applikation kann beispielsweise auch unter Zuhilfenahme ionophoretischer Methoden und/oder mit Hilfe der Elektroporation erfolgen. Darüber hinaus können Lipofektine und/oder andere (Nukleinsäure- bzw. DNA-)Carriersysteme, beispielsweise solche, die in der Gentherapie Anwendung finden, verwendet werden. Insbesondere sind Systeme geeignet, mit deren Hilfe Oligonukleotide mit großer Effizienz in eukaryotische Zellen bzw. die Kerne eukaryotischer Zellen eingebracht werden können.

Eine pharmazeutische Zubereitung kann neben den Wirk- und Trägerstoffen noch Zusatzstoffe, wie z. B. Füllstoffe, Streck-, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-, Stabilisierungs-, Emulgier-, Konservierungs-, Süß-, Färb-, Geschmacks- oder Aromatisierungs-, Dickungs-, Verdünnungsmittel, Puffersubstanzen, ferner Lösungsmittel und/oder Lösungsvermittler und/oder Mittel zur Erzielung eines Depoteffekts, sowie Salze zur Veränderung des osmotischen Drucks, Überzugsmittel und/oder Antioxidantien enthalten. Sie können auch zwei oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze enthalten sowie ferner neben mindestens einem Oligonukleotid einen oder mehrere andere therapeutisch wirksame Stoffe.

### Beispiele

25 Beispiel 1: Oligonukleotidsynthese

Oligonukleotide wurden auf einem automatischen DNA Synthesizer (Applied Biosystems Model 380B oder 394) unter Anwendung der Standard Phosphoramidite-Chemie und Oxidation mit Jod synthetisiert (F. Eckstein, Ed "Oligonucleotides and

Analogues, A Practical Approach", IRL Press, Oxford, 1991). Zur Einführung von Phosphorothioat-Brücken in gemischten Phosphorothioaten und Phosphodiester Oligonukleotiden wurde anstelle von Jod mit TETD (Tetraethylthiuramdisulfid) oxidiert (Applied Biosystems User Bulletin 65). Nach Abspaltung vom festen Träger (CPG oder Tentagel) und Entfernung der Schutzgruppen mit konz.  $\text{NH}_3$  bei 55°C (18h) wurden die Oligonukleotide zunächst durch Butanol-Fällung (Sawadogo, Van Dyke, Nucl. Acids Res. 19 (1991) 674 ) gereinigt. Das Natriumsalz wurde dann durch Ausfällung aus einer 0.5 M NaCl Lösung mit 2.5 Volumenteilen Ethanol erhalten.

10 Die Oligonukleotide wurden mit Hilfe der

a) Analytischen Gelelektrophorese (Gel: 20% Acrylamid, 8M Harnstoff; Laufpuffer:

454M Tris-borat Puffer, pH 7.0) und/oder

b) HPLC-Analyse (Säulenmaterial: Waters GenPak FAX, Gradient:  $\text{CH}_3\text{CN}$  (400ml),  $\text{H}_2\text{O}$  (1.6l),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (3.1g), NaCl (11.7g), pH6.8 (0.1M an NaCl) nach  $\text{CH}_3\text{CN}$  (400ml),  $\text{H}_2\text{O}$  (1.6l),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (3.1g), NaCl (175.3g), pH6.8 (1.5M an NaCl)) und/oder

c) Kapillargelelektrophorese (Beckmann Kapillare eCAP<sup>TM</sup>, U100P Gel Column, 65 cm length, 100 mm I.D., window 15 cm from one end; Puffer: 140  $\mu\text{M}$  Tris, 360mM Borsäure, 7M Harnstoff) und/oder

20 d) Elektrospray Massenspektroskopie

analysiert

Die Analyse des Oligonukleotids ergab, daß dieses jeweils in einer Reinheit von größer 90% vorlag.

Synthetisiertes Oligonukleotid:

ODN1 (Sequenz SEQ ID NO. 24): 3'-GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC-5'

25

Beispiel 2: Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung

50 mg ODN 1 aus Beispiel 1 werden mit 1g Dermatop<sup>®</sup> (Hoechst

5 Aktiengesellschaft, Frankfurt am Main, Germany) Basiscreme eng vermischt und die Mischung bei Temperaturen < 10 °C aufbewahrt.

Beispiel 3:

10 Die Creme aus Beispiel 2 soll zweimal täglich (morgens und nachmittags bzw. abends) auf eine depigmentierte Hautstelle eines Vitiligo-Patienten aufgetragen werden.

TGCTCAACA ATTGTACAA CCGTGGAGA TGGGTGGAGA ATGATGCGT GTGTGATGAG 960  
 GGTTCACGG GCGAAGACTG CAGTGAGCTC ATCTGCCCA ATGACTGCTT CGACCGGGC 1020  
 CGCTGCATCA ATGGCACCTG CTACTCGAA GAAGGCTTCA CAGGTGAAGA CTGCGGAAA 1080  
 CCCACCTGCC CACATGCTG CCACACCCAG GCGCGGTGTG AGGAGGGCA GTGTGTATGT 1140  
 5 GATGAGGGCT TTGCGGTGT GACTGCGAG GAGAAGAGT GTCTGTGTA CTGTCACAAT 1200  
 CGTGGCCGT GTGTAGACG GCGGTGTGAG TGTGATGATG GTTCACTGG AGCTGACTGT 1260  
 GGGAGCTCA AGTGTCCAA TGGCTGCAGT GGCATGGCC GCTGTGTCAA TGGGCAGTGT 1320  
 GTGTGTGATG AGGGCTATAC TGGGGAGGAC TGCAGGCCAG TACGGTGGCC CAATGACTGT 1380  
 CACAGTCGG GCGCTGTGT CGAGGGCAA TGTGTATGT AGCAAGGCTT CAAGGGCTAT 1440  
 10 GACTGCAGT ACATGAGCTG CCTAATGAC TGTACCAGC AGGCGCGCTG TGTGAATGGC 1500  
 ATGTGTGTTT GTGATGACGG CTACACAGG GAAGACTGCC GGGATGCCA ATGCCCGAG 1560  
 GACTGCAGCA ACAGGGGCTT CTGTGTGGAC GGACAGTGGC TCTGTGAGGA CGGCTTCACC 1620  
 GGGCTGACT GTGCAGAACT CTCTGTCCA AATGACTGCC ATGGCCAGGG TCGCTGTGTG 1680  
 AATGGGCACT GCGTGTGCCA TGAAGGATTT ATGGGCAAG ACTGCAGGA GCAAGATGT 1740  
 15 CCCAGTACT GTCATGGCCA GGGCGCTGC GTGGACGGC AGTGATCTG CCACGAGGGC 1800  
 TTCACAGGC TGGACTGTGG CAGCACTCC TGCCCCAGT ACTGCACAA CTTAGGACAA 1860  
 TCGTCTCGG GCGCTGTGAT CTGCACGAG GGCTACAGG GAGAGACTG CTCAGAGGTG 1920  
 TCTCTTCCA AAGACCTGT TGTGACAGAA GTACGGAAG AGAGGTCAA CTGCGCTGTG 1980

Tabelle 1: Sequenz SEQ ID NO. 1:

Sequenz der humanen Tenascin cDNA nach A. Siri et al. Nucl. Acids Res. 19

(1991) 525-531.

5 GAATTCGCTA GAGCCCTAGA GCGCCAGCAG CACCCAGCCA AACCCACCTC CACCATGGGG 60  
 GCCATGACTC AGCTGTGGC AGGTGCTTT CTTGCTTTCC TTGCCCTGCG TACCGAAGGT 120  
 GCGATGACTC AGCTGTGGC AGGTGCTTT CTTGCTTTCC TTGCCCTGCG TACCGAAGGT 180  
 GGGTCTCTCA AGAAAGTCAT CCGGCACAGG CGACAGAGTG GGGTGAACG CACCTGCGCA 240  
 GAAGAGAAC AGCCAGTGGT GTTTAACAC GTTTACACCA TCAAGCTGCC AGTGGGATCC 300  
 10 CAGTGTTCGG TGGATCTGGA GTGAGCCAGT GGGGAGAAAG ACCTGGCACC GCCTTCAGAG 360  
 CCCAGGAAA GCTTTCAGGA GCACACAGTA GATGGGAAA ACCAGATTGT CTTACACAT 420  
 CGCATCAACA TCCCCCGCG GCGCTGTGGC TGTGCGCAG CCCCTGATGT TAAGGAGCTG 480  
 CTGAGCAGAC TGGAGGAGCT GGAAGACCTG GTGTCTTCCC TGAGGGAGCA ATGTAATGCA 540  
 GGAGCAGCT GCTGTCTCA GCCTGCCACA GCGCGCTTGG ACACAGGCC CTTCTGTAGC 600  
 15 GGTGCGGGA ACTTCAGCAC TGAAGGATGT GCGTGTGTCT GCGACCTGG CTGGAAGGC 660  
 CCCAACTGCT CTGAGCCGGA ATGTCCAGC AACTGTACC TTGAGGCGG GTGCATTGAT 720  
 GGGCAGTGCA TCTGTGACGA CGGCTTACG GCGAGGACT GCAGCCAGCT GCGTTGCCCC 780  
 AGGACTGCA ATGACACGG CAAGTGCCTG AATGAGTCT GCATCTGTTT CGAAGGCTAC 840  
 GCGGTGACT GCAGCGTGA AATCTGCCA GTGCCCTGCA GTGAGGAGCA CGGCATGT 900  
 20 GTAGATGGCT TGTGTGTG TGACATGGC TTTCAGGGG ATGACTGCCA CAGCCTCTG

GACAATGAGA TCGGGGTCCAG AGAGTACCTT GTCGGTGACA CGCCACCCA CGAGGGTGGT 2040  
 CTGGAAATGC AGTTCGGTGT GCGTGGGGAC CAGAGGTCCA CCATCATCCG GAGGCTGGAG 2100  
 CCTGTTTGG AGTACTTTAT CCGTGTTATT GCCATCCTGG AGAACAAGAA GAGCATTCCT 2160  
 GTACAGGCCA GGGTGGCCAC GTACTTACCT GCACCTGAAG GCGTGAATTT CAAGTCCATC 2220  
 AAGGAGACAT CTGTGGAAGT GGAGTGGGAT CCTCTAGACA TTGCTTTTGA AACCTGGGAG 2280  
 ATCATCTTTC GGAATATGAA TAAAGAAGAT GAGGAGAGAGA TCACCAAAAG CCTGAGGAGG 2340  
 CCAAGAGACT CTTACCGGCA AACTGGTCTA GCTCCTGGGC AAGAGTATGA GATATCTCTG 2400  
 CACATATGTA AAAACAATAC CCGGGGCCCT GGCCTGAAGA GGGTGACCAC CACAGCCTTG 2460  
 GATGCCCCCA GGCAGATCGA GGTGAAGAT GTCACAGACA CCACTGCCTT GATCACCTGG 2520  
 TCAAGATTC TGGCTGAGAT CGATGGGATT GAGCTGACCT ACGGCATCAA AGAGTGCCA 2580  
 GGAGACCGTA CCACCATCGA TCTCACAGAG GACGAGAACC AGTACTCCAT CGGGAACCTG 2640  
 AAGCCTGACA CTGAGTACGA GGTGTCCTC ATCTCCCGCA GAGTGACAT GTCAAGCAAC 2700  
 CCAGCCAAAG AGACCTTCAC AACAGGCCTC GATGCTCCA GGAATCTTCG ACGTGTITTC 2760  
 CAGACAGATA ACAGCATCAC CTTGGAATGG AGGAATGGCA AGGCAGCTAT TGACAGTTAC 2820  
 AGAATTAAAT ATGCCCCCAT CTCTGGAGGG GACCACGCTG AGGTTGATGT TCCAAAGAGC 2880  
 CAACAAGCCA CAACCAAAAC CACACTCACA GGTCTGAGGC CGGGAACCTGA ATATGGGATT 2940  
 GGAGTTTCTG CTGTGAAGGA AGACAAGGAG AGCAATCCAG CGACCATCAA CGCAGCCACA 3000  
 GAGTTGACGA CCGCAAGGA CTTTCAGGTT TCTGAAACTG CAGAGACCAG CTTGACCTTG 3060

CTCTGGAAGA CACCGTTGGC CAATTTTGAC CGTACCGCC TCAATTACAG TCTCCCCACA 3120  
 GGCAGTTGGG TGGGAGTGCA GCTTCCAAGA AACACACTT CCTATGTCTT GAGAGGCTTG 3180  
 GAACCAAGAC AGGAGTACAA TGTCTCTCTG ACAGCCGAGA AAGCAGACA CAAGAGCAAG 3240  
 CCGCACGTTG TGAAGGCATC CACTGAACAA GCCCCTGAGC TGGAAACCTT CACCGTGACT 3300  
 5 GAGGTTTGGT GGGATGGCCT CAGACTCAAC TGGACCGCG CTGACCAGGC CTATAGGCAC 3360  
 TTTATCATTC AGGTGCAGGA GGCCAACAAG GTGAGGCAG CTCGGAACCT CACCGTGCTT 3420  
 GGCAGCCTTC GGGCTGTGGA CATACCGGCG CTCAGGCTG CTACGCCCTTA TACAGTCTCC 3480  
 ATCTATGGGG TGATCCAGGG CTATAGAACA CCAGTGTCTT CTGTGAGGC CTCCACAGGG 3540  
 GAAACTCCCA ATTTGGGAGA GGTGTTGGT GCCAGGTGG GCTGGGATGC COTCAAATTC 3600  
 10 AACTGGACTG CTCCAGAAGG GGCTATATGAG TACTTTTCA TTCAGGTGCA GGAGGCTGAC 3660  
 ACAGTAGAGG CAGCCAGAA CCTCACCGTC CCAGGAGGAC TGAGGTCCAC AGACCTGCTT 3720  
 GGGCTCAAG CAGCCACTCA TTATACCATC ACCATCCGG GGGTCACTCA GGACTTCAGC 3780  
 ACAACCCCTC TCTCTTTGA AGTCTTGACA GAGGAGGTTT CAGATATGGG AAACCTCACA 3840  
 GTACCCGAGG TTAGCTGGA TGCTCTCAGA CTGAACCTGA CCACGCCAGA TGGAACTTAT 3900  
 15 GACCAGTTTA CTATTCAGT CCAGGAGGCT GACCAGGTGG AAGAGGCTCA CAATCTCAGC 3960  
 GTTCTCTGCA GCTGCGTTC CATGAAATC CCAGGCCCTCA GGGCTGGCAC TCCTTACACA 4020  
 GTCACCCCTG ACGGCAGGT CAGGGGCCAC AGCACTCCAG CCTTGTCTGT AGAGTCTGTC 4080  
 CAGTGGAGC TGCCGTCCA GTCCCGGTG TCGTGAGCTG GGAAGGACA TCTCCAGCAG 4140

ACAGAGATC TCCACAGCT GGGAGATTTA GCCGTGTCTG AGTTGGCTG GGATGSCCTC 4200  
 AGACTCACT GGACCGCAGC TGACAATGCC TATGAGCACT TTGTCAATCA GGTGCAGGAG 4260  
 GTCAACAAG TGGAGGCAGC CCAGAACCTC ACGTTCCTG GCAGCCTCAG GCCTGTGGAC 4320  
 ATCCCGGGCC TCGAGGCTGC CAGGCCTTAT AGAGTCTCCA TCTATGGGGT GATCCGGGGC 4380  
 TATAGACAC CAGTACTCTC TGCTGAGGCC TCCACAGCCA AAGAACCCTGA AATTGGAAAC 4440  
 TTTAATGTTT CTGACATAAC TCCCGAGAGC TTCAATCTCT CTTGATGSC TACCGATGGG 4500  
 ATCTTCGAGA CCTTTACCAT TGAAATTAAT GATTCCAATA GGTTCGTGGA GACTGTGGAA 4560  
 TATAATATCT CTGTGTCTGA ACGAAGTCCC CATATCTCAG GGCTACCCCC TAGTACTGAT 4620  
 TTTATTGTCT ACCTCTCTGG ACTTGCTCCC AGCATCCGGA CCAAAACCAT CAGTGCCACA 4680  
 GGCACAGAG AGGCCCTGCC CCTTCTGGAA AACCTAAGCA TTTCCGACAT TAATCCCTAC 4740  
 GGTTCACAG TTCTCTGGAT GGCATCGGAG AATGCCCTTG ACAGCTTTCT AGTAACGGTG 4800  
 GTGGATTCTG GGAAGTGTCT GGACCCCCAG GAATTCACAC TTTGAGGAAC CCAGAGGAAG 4860  
 CTGGAGCTTA GAGGCTCAT AACTGGCAAT GGCTATGAGG TTATGGTCTC TGGCTTCACC 4920  
 CAAGGCATC AAACCAAGCC CTTGAGGGCT GAGATTGTTA CAGAAGCCGA ACCGGAAGTT 4980  
 GACAACTTTC TGGTTTCAGA TGCCACCCCA GACGGTTTCC GTCTGTCTTG GACAGTGTAT 5040  
 GAAGGGGTCT TCGACAATTT TGTCTCANA ATCAGAGATA CCAAAAAGCA GTCTGAGCCA 5100  
 CTGGGAATAA CCTACTTGC CCCCAGAGT ACCAGGGACA TAAACAGTCT CAGAGAGGCT 5160  
 ACTGAATACG AATTGAACT CTATGGATA AGCAAAAGGA GGCATCCCA GACAGTCAGT 5220

GCTATAGCA CAACAGCCAT GGGTCCCCA AAGGAAGTCA TTTTCTAGA CATCACTGAA 5280  
 AATTCGGCTA CTGTAGCTG GAGGGACCC ACGGCCCAAG TGGAGAGCTT CCGGATTACC 5340  
 TATGTCCCA TTACAGAGG TACACCTCC ATGTTAAGT TGGACGGAAAC CAAGACTCAG 5400  
 ACCAGGCTGG TGAACTCAT ACTGGCGTG GAGTACCTTG TCAGCATCAT GGCATGAAG 5460  
 GGCTTTGAGG AAGTGAACC TTCTCAGGG TCATTACCA CAGCTCTGGA TGGCCCATCT 5520  
 GGCCTGTGA CAGCAACAT CACTGACTCA GAAGCCTTG CCAGGTGGCA GCAGCCATT 5580  
 GGCACGTGG ACAGTTATGT CATCTCTAC ACAGCGGAGA AAGTGCCAGA AATTACACG 5640  
 ACGGTGTCG GGAACACAGT GAGTATGCT CTGACCGACC TCGAGCCTGC CACGGAATAC 5700  
 AACTGAGAA TCTTTGCAGA GAAAGGGCC CAGAGAGCT CAGCATCAC TGCCAAGTC 5760  
 ACAACAGACC TCGATTCTCC AAGAGACTTG ACTGCTACTG AGGTTCACTC GGAACCTGCC 5820  
 CTCCTTACT GCGGACCCC CCGGCAATCA GTCACCGGT ACCTGCTGCT CTATGAATCA 5880  
 GTGGATGGCA CAGTCAAGGA AGTCATTGTG GGTCCAGATA CCACCTCCTA CAGCCTGGCA 5940  
 GACCTGAGCC CATCCACCCA CTACAGCC AAGATCCAG CACTCAATGG GCCCCTGAGG 6000  
 AGCAATATGA TCCAGACCAT CTTCAACCA ATTGGACTCC TGTACCCCTT CCCCAGGAC 6060  
 TGCTCCCAAG CAATGCTGAA TGGAGACAG ACCTCTGGCC TCTACACCAT TTATCTGAAT 6120  
 GGTGATAAG CTCAGGCGCT GGAAGTCTTC TGTGACATGA CCTCTGATGG GGGTGGATGG 6180  
 ATTGTGTTCC TGAGACGCA AAACGGAGC GAGAATTCTT ACCAAACTG GAAGCATAT 6240  
 GCTGCTGGAT TTGGGACCG CAGAGAGAA TTCTGGCTTG GGCTGGACAA CCTGAACAAA 6300

ATGACAGTCC AGGGGACATA CAGACTCCGG GTGGACCTGC GGGACCATGG GGAGACAGCC 6360  
 TTTGTTGTTT ATGAAGAATT CAGCGTGGGA GATGCCAAGA CTCCTACAA GCTGAAGGTG 6420  
 GAGGGGTACA GTGGACAGC AGTGAATCTC ATGGCTTACC ACAATGGCAG ATCCTTCTCC 6480  
 ACCTTTGACA AGGACACAGA TTGAGCCATC ACCAACTGTG CTCGTCTTAC AAGGGGCTTC 6540  
 TGGTACAGGA ACTGTACAGG TGTCAAACTG ATGGGAGAT ATGGGGACAA TAACACAGT 6600  
 CAGGGCTTAA ACTGGTTCCA CTGGAAGGGC CAGCAACACT CAATCCAGTT TGCTGAGATG 6660  
 AAGTTGAGAC CAAGCAACTT CAGAAATCTT GAAGGAGGC GCAACGGGC ATAAATTGGA 6720  
 GAGACAACTG GGTGAGAGAG GAAATAGGGC GCCCAGAGCG AGGAAAGGAT TTTACCAAAG 6780  
 CATCAATACA AATAGCCCAA CCATCGTCC ACACCTGGGC ATTGGTGAG AATCAAAGCT 6840  
 GAGCATGATG CACTAGGGCC AAGGGCAACA GCATGGGCT CACCTCCTCT GTGATTTCTT 6900  
 TCTTTGACCC AAGACATCA GTCTCCAACA TGTTTCTGTT TTGTTGTTTG ATTACGAAA 6960  
 AATCTCCAG TGACACATC GCAATAGTTT TTTACTTCTC TTAGTGGCT CTGGGATGGG 7020  
 ACAGAGGTAG GATGTACAGG GGTAGTTTGT TTTAGAACCA GCCGTATTTT ACATGAAGCT 7080  
 GTATAAATAA TGGCAATAT TTTTGTAGC AAGATTAAA TGTGTCATTG GAAGCCATCC 7140  
 CTTTCTTTTAA ATTTCAACA ACAGAAACCA GAAAAGCAAT ACTGTTTCCA TTTTAAGGAT 7200  
 ATGATTAATA TTATTAATAT AATAATGATG ATGATGATGA TGAAAACTAA GGATTTTCCA 7260  
 ACAGATTTTT CTTTCAAAA CATTTCTGGA CAGTACCTGA TTGTATTTTT TTTTAAATA 7320  
 AAGGCAAAAG TACTTTTGAA AAAAAA 7346

## Ansprüche:

- 1 Oligonukleotid, das an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, binden kann und das aus maximal 17 Nukleotideinheiten, die gegebenenfalls modifiziert sein können, aufgebaut ist sowie dessen physiologisch verträgliche Salze.
- 2 Oligonukleotid nach Anspruch 1, welches aus 7 bis 17 Nukleotideinheiten aufgebaut ist.
- 3 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 und 2, welches aus 11 bis 17 Nukleotideinheiten aufgebaut ist.
- 4 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, welches an das Tenascin-Gen und/oder Tenascin mRNA und/oder Tenascin cDNA spezifisch binden kann.
- 5 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, welches spezifisch an eine Nukleinsäure, die die Sequenz in Tabelle 1 oder Teile derselben aufweist, binden kann.
- 6 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, welches spezifisch an einen Bereich der Nukleinsäure binden kann, der
  - a) einen Teil des 5'-nichtkodierenden Bereichs und/oder den Translationsstart oder
  - b) den Translationsstart und/oder einen Teil des kodierenden Bereichs oder
  - c) einen Teil des kodierenden Bereichs und/oder einen Teil des 3'-nichtkodierenden Bereichs

30 umfaßt.

9. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, welches eine der Sequenzen ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 3, SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 5, SEQ ID NO. 7 oder SEQ ID NO. 18 hat.

10. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, das die Sequenz SEQ ID NO. 5 hat.

11. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, das die Sequenz SEQ ID NO. 18 hat.

12. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 11, welches aus den natürlichen Nukleosiden Adenosin, Guanosin, Inosin, Cytidin, Uridin und Thymidin aufgebaut ist und in welchem die Nukleoside über Phosphorsäurediester Brücken miteinander verknüpft sind.

13. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12, welches eine oder mehrere chemische Modifikationen hat.

14. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 13, welches eine oder mehrere chemische Modifikationen hat, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe der chemischen Modifikationen a) bis g), wobei

a) den Ersatz einer Phosphorsäurediester-Brücke durch eine modifizierte Phospho-Brücke,

b) den Ersatz einer 3'- und/oder 5'-Phosphorsäurediester-Brücke durch eine "Dephospho"-Brücke,

c) den Ersatz einer Zuckerphosphat-Gruppe,

d) den Ersatz einer  $\beta$ -D-2'-Desoxyriboseeinheit,

7. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 aufweist, wobei SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 folgende Bedeutung haben:

SEQ. ID NO. 2: 3'-GGTTGGTGGAGTGG-5'  
 SEQ. ID NO. 3: 3'-GGAGGTGGTACCCCCGG-5'  
 SEQ. ID NO. 4: 3'-GGTGTACCCCCGG-5'  
 SEQ. ID NO. 5: 3'-GGAGGTGGTACCCC-5'  
 SEQ. ID NO. 6: 3'-AGAAAGAACGAAAGGAA-5'  
 SEQ. ID NO. 7: 3'-GGAGGTGGTACC-5'  
 SEQ. ID NO. 8: 3'-GGAGCGATGGCTTCCA-5'  
 SEQ. ID NO. 9: 3'-AAAGGAACGGGAGCG-5'  
 SEQ. ID NO. 10: 3'-GGTCGGTTTGGGTGG-5'  
 SEQ. ID NO. 11: 3'-CTTACAGGTCCGTTGA-5'  
 SEQ. ID NO. 12: 3'-GGCCGTGTCGCTGT-5'  
 SEQ. ID NO. 13: 3'-TCACCCCTCTTTCTGG-5'  
 SEQ. ID NO. 14: 3'-GGACACCCGACACGG-5'  
 SEQ. ID NO. 15: 3'-AACGGGAGCGATGG-5'  
 SEQ. ID NO. 16: 3'-ATCTCGGGGTCGTC-5'  
 SEQ. ID NO. 17: 3'-AAAGAACGAAAGGAA-5'  
 SEQ. ID NO. 18: 3'-GGTGGTACCCC-5'  
 SEQ. ID NO. 19: 3'-CCCGGTACTGA-5'  
 SEQ. ID NO. 20: 3'-CCACAGAAAGAAC-5'

8. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, welches eine Sequenz ausgewählt aus der Reihe enthaltend die Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 10 oder SEQ ID NO. 18 hat.



e) die Modifikation beziehungsweise den Ersatz einer natürlichen Nucleosid-Base,

f) die Konjugation mit einem Molekül, welches die Eigenschaften des Oligonukleotids an eine spezielle Anforderung anpaßt

und

5 g) 3'-3'-Inversion und/oder 5'-5'-Inversion am 3'-Ende des

Oligonukleotids

bedeuten.

15 Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 14, welches eine oder mehrere chemische Modifikationen enthält, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe a) bis g).

wobei

a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediester-Brücken durch Phosphorothioat-, Phosphorodithioat-,  $\text{NR}^1\text{R}^2$ -Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-( $\text{C}_1\text{-C}_{21}$ )-O-Alkylester, Phosphat-[( $\text{C}_6\text{-C}_{12}$ )-Aryl-( $\text{C}_1\text{-C}_{21}$ )-O-Alkyl]ester, ( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-Alkylphosphonat- und/oder ( $\text{C}_6\text{-C}_{12}$ )-Arylphosphonat-Brücken,

wobei

$\text{R}^1$  und  $\text{R}^2$  unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Reihe enthaltend Wasserstoff, ( $\text{C}_1\text{-C}_{18}$ )-Alkyl, ( $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ )-Aryl, ( $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ )-Aryl-( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-alkyl und/oder

20  $\text{R}^1$  und  $\text{R}^2$  zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe O, S, N enthalten kann.

b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der 3'- und/oder 5'-Phosphorsäurediester-Brücken durch "Dephospho"-Brücken, wobei die

"Dephospho-Brücken" unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend Formacetal, 3'-Thioformacetal, Methylhydroxylamin, Oxim, Methylendimethylhydrazo, Dimethylsulfon und/oder Silylgruppe.

c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats, durch

5 "Morpholinonucleosid"-Oligomere und/oder durch Peptid Nucleinsäuren ("PNAs") und/oder Phosphomonosäureester Nukleinsäuren ("PHONAs"),

d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der  $\beta$ -D-2'-Desoxyriboseeinheiten, wobei die einzelnen  $\beta$ -D-2'-Desoxyriboseeinheiten unabhängig voneinander ersetzt werden können durch  $\alpha$ -D-2'-Desoxyribose, L-2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-Alkyl-Ribose, 2'-O-( $\text{C}_2\text{-C}_6$ )-Alkenyl-Ribose, 2'-O-( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-Alkyl-O-( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-Alkyl-Ribose, 2'-NH<sub>2</sub>-2'-desoxyribose,  $\beta$ -D-Xylofuranose,  $\alpha$ -Arabinofuranose, 2,4-Dideoxy- $\beta$ -D-erythro-hexo-pyranose, carbocyclische und/oder offenkettige Zuckeranaloga und/oder Bicyclo-Zuckeranaloga,

e) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen durch 15 durch Verbindungen, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-Aminouracil, Pseudouracil, Dihydrouracil, 5-( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-Alkyl-uracil, 5-( $\text{C}_2\text{-C}_6$ )-Alkenyl-uracil, 5-( $\text{C}_2\text{-C}_6$ )-Alkynyl-uracil, 5-( $\text{C}_1\text{-C}_6$ )-Alkyl-cytosin, 5-( $\text{C}_2\text{-C}_6$ )-Alkenyl-cytosin, 5-( $\text{C}_2\text{-C}_6$ )-Alkynyl-cytosin, 5-Fluoruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Chlorcytosin, 5-Bromuracil, 5-Bromcytosin oder 7-Deaza-7-substituierte Purine,

f) die Konjugation des Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, welche die Eigenschaften des Oligonukleotids günstig beeinflussen und/oder bei der Hybridisierung des modifizierten Oligonukleotids an die Target-Sequenz diese unter 25 Bindung und/oder Quervernetzung angreift, wobei die Konjugate unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend Poly-Lysin, Interkalatoren, fluoreszierende Verbindungen, Cross-Linker, lipophile Moleküle, Lipide, Steroide, Vitamine, Poly- bzw. Oligoethylenglycol, ( $\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$ )-Alkyl-Phosphatdiester und/oder -O-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-O-( $\text{C}_{12}\text{-C}_{18}$ )-Alkyl-Gruppe.

und

g) 3'-3'-Inversionen und/oder 5'-5'-Inversionen am 3'-Ende beziehungsweise 5'-Ende des Oligonukleotids

bedeuten.

16. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15, wobei das Oligonukleotid mit einem oder mehreren Molekülen ausgewählt aus der Reihe Pyren, Acridin, Phenazin, Phenanthridin, Fluorescein, Psoralen, Azidoproflavin, (C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>)-Alkyl, 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Cholesterin, Testosteron und/oder Vitamin E konjugiert ist.

17. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 16, in welchem die Phosphorsäurediester-Brücken teilweise oder vollständig durch Phosphorothioat-Brücken ersetzt sind und welches gegebenenfalls mit einem oder mehreren lipophilen Molekülen, ausgewählt aus der Reihe (C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>)-Alkyl, 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, (C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit -O-CH<sub>2</sub>-CH(OH)-O-(C<sub>12</sub>-C<sub>18</sub>)-Alkyl, konjugiert ist.

18. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, in welchem alle Phosphodiester-Brücken durch Phosphorothioat-Brücken ersetzt sind (durchgängig modifiziertes Phosphothioat).

19. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, in welchem ausgewählte Phosphorsäurediester-Brücken durch Phosphothioat-Brücken ersetzt sind (minimal modifiziertes Phosphothioat).

20. Oligonukleotid nach Anspruch 19, welches eine Sequenz ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 folgende Bedeutung haben:

SEQ ID NO. 21: 3'-GsGsTsTGGGTsGGAGGsTsGsG-5'  
SEQ ID NO. 22: 3'-GsGsAsGGTsGGTsACsCCsCsGsG-5'

SEQ ID NO. 23: 3'-GsGsTGGTsACsCCsCsGsG-5'  
SEQ ID NO. 24: 3'-GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC-5'  
SEQ ID NO. 25: 3'-AsGsAAAGAAAsCsGAAAGGsAsA-5'  
SEQ ID NO. 26: 3'-GsGsAGGTsGGTsAsCsC-5'  
SEQ ID NO. 27: 3'-GsGsAGCsGATsGGCsTsTsCsCsA-5'  
SEQ ID NO. 28: 3'-AsAsAGGAACsGGGAGGsCsG-5'  
SEQ ID NO. 29: 3'-GsGsTCGGTsTsTGGGTsGsG-5'  
SEQ ID NO. 30: 3'-CsTsTACAGGTsCsCGTsTsGsA-5'  
SEQ ID NO. 31: 3'-GsGsCsCGsTGtsTCGCsTsGsT-5'  
SEQ ID NO. 32: 3'-TsCsACsCCsCTsCsTTsTsCsTsGsG-5'  
SEQ ID NO. 33: 3'-GsGsAsCACsCGACsACsGsG-5'  
SEQ ID NO. 34: 3'-AsAsCsGGGAGCGATsGsG-5'  
SEQ ID NO. 35: 3'-AsTsCsTCGGGGTsCsGsTsC-5'  
SEQ ID NO. 36: 3'-AsAsAGAAACsGAAAGGsAsA-5'  
SEQ ID NO. 37: 3'-GsGsTGGTsACsCsCsC-5'  
SEQ ID NO. 38: 3'-CsCsCsGGTsACsTsGsA-5'  
SEQ ID NO. 39: 3'-CsCsAsCAGAAAGsAsAsC-5'

21. Chimäres Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, welches eine "Core Sequenz" und eine oder mehrere flankierende Sequenzen enthält.

22. Chimäres Oligonukleotid nach Anspruch 21, welches eine der Sequenzen ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 folgende Bedeutung haben

SEQ ID NO. 40: 3'-GyGyTyTyGxGxTxGxGxGxGxGyTyGyG-5'  
SEQ ID NO. 41: 3'-GyGyAyGyGyTxGxTxAxCxCxCyCyGyG-5'  
SEQ ID NO. 42: 3'-GyGyTxGxGxTxAxCxCxCxCyCyGyG-5'

- SEQ ID NO 43: 3'-GyGyAyGyGxTxGxGxTx**Ax**CyCyCyC-5'
- SEQ ID NO 44: 3'-AyGyAyAxGxGxGxGxGxGxGxGxGxGyGyAyA-5'
- SEQ ID NO 45: 3'-GyGyAxGxGxTxGxGxTx**Ay**CyC-5'
- SEQ ID NO 46: 3'-GyGyAxGxGxGxGxTxGyGyCyTyTyCyCyA-5'
- SEQ ID NO 47: 3'-AyAyAyGxGxGxGxGxGxGxGyGyAyGyCyG-5'
- SEQ ID NO 48: 3'-GyGyTyCxGxGxTxTxTxGxGyGyTyGyG-5'
- SEQ ID NO 49: 3'-CyTyTyAxGxGxGxGxTxTxGxGyTyTyGyA-5'
- SEQ ID NO 50: 3'-GyGyCyCxGxTxGxTxTxTxGxGyCyTyGyT-5'
- SEQ ID NO 51: 3'-TyCyAyCxGxGxGxTxTxTxTxTyTyCyTyGyG-5'
- SEQ ID NO 52: 3'-GyGyAyCxGxGxGxGxGxGxGxGxGxGyGyG-5'
- SEQ ID NO 53: 3'-AyAyCyGxGxGxGxGxGxGxGxGxGxTyGyG-5'
- SEQ ID NO 54: 3'-AyTyCyTxGxGxGxGxGxGxTxTxGxGyTyC-5'
- SEQ ID NO 55: 3'-AyAyGxGxGxGxGxGxGxGxGxGxGxGyGyAyA-5'
- SEQ ID NO 56: 3'-GyGyTxGxGxTx**Ax**CxGyCyC-5'
- SEQ ID NO 57: 3'-CyCxGxGxGxTxTxGxGyTyGyA-5'
- SEQ ID NO 58: 3'-CyCyAxGxGxGxGxGxGxGxGyAyAyC-5'

wobei

- 20 x unabhängig voneinander für eine Phosphodiester Brücke oder eine Phosphothioat Brücke steht und
- y unabhängig voneinander für 2'-O-Methyl, 2'-O-Propyl, 2'-Methoxyethoxy oder PNA steht.
- 23 Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 22 zur Hybridisierung mit Tenascin-kodierenden Nukleinsäuren.

24. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 23 zur Hybridisierung mit Nukleinsäuren, die die Sequenz SEQ ID NO. 1 gemäß Tabelle 1 oder Teile dieser Sequenz aufweisen.
25. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 24 zur Inhibition der Expression von Tenascin.
26. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 25 als Antisense Oligonukleotid.
27. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 26 zur Herstellung eines Arzneimittels, das zur Behandlung von Krankheiten, die mit einer Überexpression von Tenascin einhergehen, verwendet werden kann.
28. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels, das zur Behandlung von Depigmentierungskrankheiten verwendet werden kann.
29. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 28 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Albinismus und/oder Psoriasis.
30. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 28 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Vitiligo.
31. Verwendung eines Arzneimittels nach Anspruch 30 in Kombination mit Photochemotherapie und/oder der Transplantation von kultivierten Melanocyten und/oder der Behandlung mit Steroiden und/oder der Behandlung mit Plazenta-Extrakten.

32. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krebs.

33. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Melanomen.

34. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Entzündungen.

35. Verwendung eines Arzneimittels nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 27 zur Behandlung und/oder Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen.

36. Arzneimittel enthaltend eines oder mehrere verschiedene Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 22 sowie gegebenenfalls einen oder mehrere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe.

37. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, daß eine wirksame Dosis eines oder mehrerer Oligonukleotide mit einem oder mehreren pharmazeutischen Träger- und/oder Zusatzstoffen gemischt wird.

38. Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotids gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 22 wobei die Oligonukleotide chemisch an einer Festphase synthetisiert werden.

## Zusammenfassung

Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin zur Behandlung von Vitiligo

5 Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechenden bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung 10 von Vitiligo verwendet werden können.